



TITLE:

植物における核膜形態維持の分子機構(Digest_要約)

AUTHOR(S):

後藤, 千恵子

CITATION:

後藤, 千恵子. 植物における核膜形態維持の分子機構. 京都大学, 2014, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2014-07-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18496>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

植物における核膜形態維持の分子機構

後藤千恵子

細胞核（以下、単に核とする）の形や大きさは細胞の分化状態や病気によって変化する。モデル植物であるシロイヌナズナでは、分裂組織と孔辺細胞の核は球形であるのに対し、その他の分化および発達が進んだ表皮細胞の核は紡錘形である。それぞれの組織において核が固有の形や大きさをとる機構が存在していると考えられるが、その仕組みはよくわかっていない。核の形や大きさに影響を与える因子は数多く存在するが、中でも核質成分を取り囲んでいる核膜という構造が直接的に核の形や大きさに関係していると考えられる。本研究では、核膜に局在するタンパク質の解析を通じて核膜の形態が維持される分子機構に迫った。

一般的に、核膜は二重の脂質膜（核内膜および核外膜）と核膜孔複合体、および核ラミナで構成されている。核膜の形態維持において中心的な役割を果たしているのは核ラミナと呼ばれる網目の層状構造体であり、これは核内膜を核質側から裏打ちするようにして存在している。動物においては、核ラミナは中間径フィラメントタンパク質のタイプ V に分類されるラミンとその結合タンパク質から成る。植物にも動物で見られるものと同様の核ラミナ構造が存在するが、その構造体を構成する分子が何であるかはほとんど分かっていない。ただし、これまでに、LITTLE NUCLEI1（LINC1）というコイルドコイルタンパク質がラミンと同等の機能を持つ核膜タンパク質の候補として同定されている。LINC1 はニンジンで生化学的に同定された核マトリックスタンパク質 Nuclear Matrix Constituent Protein1 (NMCP1) のシロイヌナズナにおけるホモログであり、ラミンとの間にアミノ酸配列上の相同性はないがコイルドコイル領域を持つ点、核膜に局在する点、および核の形態に影響を及ぼす点でラミンに類似している。

NMCP1 は生化学的に同定されたが、動物で同定された因子のホモログとして目的の因子が同定し難いときの解決策として、変異体の単離とその原因遺伝子の同定による正遺伝学的手法がある。本研究では、シロイヌナズナの核の形態異常を示す変異体として単離された *kaku2* および *kaku4*（*kaku* という変異体名は日本語の「核」に由来する）について解析を行った。

野生型では紡錘形の核を示す細胞において、*kaku2* および *kaku4* の核は球形を示す。*kaku2* の原因遺伝子は LINC1 をコードしており、*kaku4* の原因遺伝子は種子植物特異的な機能未知のタンパク質（本研究で KAKU4 と名付ける）をコードしていた。局在解析の結果、KAKU4 は核内膜の核質側、すなわち核ラミナのある位置に局在することが分かった。また、免疫沈降および BiFC 実験の結果、KAKU4 と LINC1 が相互作用することが

示唆された。LINC1 は核膜に局在すること、そのホモログであるタマネギのタンパク質 NMCP1 は核ラミナに局在することが先行研究で示唆されているため、KAKU4 と LINC1 はいずれも核ラミナに局在し、そこで相互作用すると考えられる。興味深いことに、シロイヌナズナやタバコにおいて、KAKU4 が過剰発現して核膜に蓄積すると核膜の変形が誘導された。このとき、KAKU4 の蓄積量が増えるにしたがって核膜の変形度合が深刻さを増した。ここでいう核膜の変形とは、蛍光顕微鏡で観察され得る変形であり、具体的には核周縁部で核膜が波打つような形態の形成や核膜の核内部への陥入、核のブレブ構造や核内リング状構造の形成を指す。ここでは、核膜の変形が進むにつれて、ブレブまたはリング状構造が形成されるととらえている。なお、KAKU4-GFP 過剰発現体の透過型電子顕微鏡写真においては、二重膜である核膜の湾曲や陥入、および核膜付近での膜の層状構造が観察された。KAKU4 の過剰発現に起因する核膜の変形はシロイヌナズナの変異体 *linc1* でも確認されたことから、KAKU4 が過剰に蓄積すれば LINC1 非存在下でも核膜の変形は起こるといえる。その一方で、タバコにおいて KAKU4 と LINC1 を同時に過剰発現させると核膜の変形度合が昂進した。このことから LINC1 は KAKU4 による核膜変形に対し相乗的な作用を示すと考えられる。総じて、植物特異的な核ラミナタンパク質と考えられる KAKU4 と LINC1 が、核膜の形態維持を通じて核の形や大きさに影響を与えていることが示唆された。

近年、植物の核膜に関する知見は急速に蓄積しつつある。最近になって、植物の核膜上には SUN-WIP-WIT 複合体が核内膜から核外膜までを橋渡しするようにして存在すること、それがミオシン XI-i を介して細胞質のアクチンフィラメントとつながっていることが示唆された。それらの因子の欠損変異体は全て KAKU4 および LINC1 の欠損変異体と同様の核の形態異常を示す。このことから、KAKU4-LINC1 複合体と SUN-WIP-WIT 複合体が相互作用すると予想される。この予想される相互作用によって形成される巨大な複合体は核膜を横断して核質から細胞質までを結ぶことになり、核質と細胞質それぞれに由来する力の核膜への伝達を担うかもしれない。核膜の形態維持機構を考える上で、KAKU4-LINC1 複合体と SUN-WIP-WIT 複合体との間の相互作用を検証することと、KAKU4 や LINC1 の欠損や過剰発現によって核ラミナ構造が野生型とは異なったものになるかを検証することが、残された課題として挙げられる。

本研究で新規に発見した KAKU4-LINC1 複合体は、核で生じる様々な生命現象を解析するための分子基盤になる可能性がある。実際、核膜は核質と細胞質を分断するバリアであるだけでなく、様々な核の機能に関与することが分かっている。動物細胞において、核ラミナはクロマチン構造の維持、DNA の複製、転写などに関わっており、ヒトではラミンやその結合タンパク質の異常によって早老症や筋ジストロフィーといった重篤な遺伝病が生じる。KAKU4 や LINC1 のさらなる機能解析によって、シロイヌナズナの分化や発達に関連した転写の制御機構などについて新たな知見が得られるかもしれない。